Aus dem physiol.-chem. Institut der Universität Bern

(Direktor: Prof. Dr. med. H. Aebi)

EIN BEITRAG ZUR VERGLEICHENDEN CHEMIE DER LEBER

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der Universität Bern

vorgelegt von

Paul Ebnöter

von Bütschwil (St.Gallen)

Von der Medizinischen Fakultät genehmigte gekürzte Fassung

Die Arbeit ist erschienen in: Biochemische Zeitschrift

Bd. 328, S. 126 — 137, 1956

Springer-Verlag · Berlin / Göttingen / Heidelberg

1956

Von der Medizinischen Fakultät auf Antrag des Herrn
Prof. Dr. med. H. Aebi zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 2. März 1956

Der Dekan der Medizinischen Fakultät:

Prof. Dr. W. Wilbrandt

Obgleich die Leber gewichtsmäßig nur wenige Prozent des Körpers ausmacht, nimmt sie als Zentralorgan des intermediären Stoffwechsels am Gesamtenergieumsatz in weitaus größerem Ausmaß Anteil. Die Intensität der sich in der Leber abspielenden oxydativen Prozesse findet ihren Ausdruck im relativ hohen Q_{O_2}-Wert überlebender Schnitte, der nur von demjenigen der Niere und des Gehirns übertroffen wird. Die sich daraus ergebende Frage, ob und in welchem Ausmaß ein Parallelismus zwischen Leberstoffwechsel und Grundumsatz besteht, ist bereits mehrfach bearbeitet worden. So zeigt nach den Untersuchungen von KLEIBER [11] und KREBS [13] die Gewebsatmung von Leberschnitten bei vergleichender Betrachtung annähernd dasselbe Verhalten, wie es beim Gesamtenergieumsatz zu beobachten ist. Demnach ist bei den kleinen Tierarten, die sich durch einen relativ hohen Grundumsatz auszeichnen, gleichfalls ein großer Sauerstoffverbrauch des isolierten Lebergewebes zu verzeichnen. Umgekehrt weist das Lebergewebe großer Tierarten einen relativ geringen Sauerstoffverbrauch auf. Neben diesem gleichsinnigen Verhalten von Gesamtenergieumsatz und Gewebsatmung sind es aber auch Einflüsse der Specieszugehörigkeit, die als zweiter wesentlicher Faktor die Größe der Gewebsatmung der Leber mitbestimmen. Darauf hat bereits KREBS [13] hingewiesen, indem er die Beobachtung mitgeteilt hat, daß Leberschnitte von Hund, Katze und Meerschweinchen ungefähr den gleichen Sauerstoffverbrauch zeigen, obwohl Grundumsatz wie auch Körpergewicht sehr große Unterschiede aufweisen. Besonders im Hinblick auf diese Speciesunterschiede sind in der vorliegenden Untersuchung neben Pferd, Rind, Schaf und Kaninchen auch die ungleichen Nagertypen, Ratte und Maus einerseits, sowie Meerschweinchen und Goldhamster andererseits in die vergleichende Betrachtung einbezogen worden.

Die alleinige Untersuchung der Gewebsatmung von Schnitten, wie sie in obigen Arbeiten ausgeführt worden ist, gibt indessen ein recht unvollständiges und vielleicht verzerrtes Bild. Um einen möglichst umfassenden

Einblick in den Ablauf des oxydativen Stoffwechsels und in den Energiehaushalt der Leber zu erhalten, sind hier eine Reihe weiterer Größen in den Vergleich einbezogen worden. So wurde der Gehalt der Parenchymzellen der Leber an Mitochondrien durch Bestimmung der Größe der Mitochondrien-Fraktion zu erfassen versucht. Um eine Vorstellung von der Leistungsfähigkeit des Citronensäurecyclus zu erhalten, wurde einerseits das Cyclophorasesystem als Ganzes (Pyruvatoxydation) und die Aktivität der Succinodehydrogenase bestimmt. Ferner wurde der Gehalt des Leberparenchyms an Cytochrom-C und Cytochromoxydase ermittelt. Aus den nachfolgenden Resultaten geht hervor, daß zwischen Gewebsatmung und Enzymkonzentration zwar ein Parallelismus besteht, daß aber der Abhängigkeitsgrad der verschiedenen enzymatischen Aktivitäten des Lebergewebes von der Körpergröße der betreffenden Tierart ein recht unterschiedlicher ist.

Methodik

1. Bestimmung des O_2-Verbrauches von Leberschnitten. Die Herstellung der etwa 0,4 mm dicken Organschnitte erfolgte nach der Methode von DEUTSCH [5] unter Einhaltung des früher beschriebenen Vorgehens [2]. Die Schnitte wurden bei 37,5° C und bei p_H 7,2 in einem kaliumreichen (10^{-2} m) Medium [1] unter Zugabe des 4-Substratgemisches von KREBS [13] inkubiert; dieses besteht aus äquimolaren Mengen von Glucose, Glutamat, Fumarat und Pyruvat. Die Versuchsdauer betrug 1 Std. Die Bestimmung des End-Trockengewichtes der Schnitte, sowie die Berechnung des Quellungsgrades derselben erfolgten nach beschriebenem Verfahren [2].

Bei Maus, Goldhamster, Ratte, Meerschweinchen und Kaninchen konnte das Lebergewebe unmittelbar nach dem Töten (Decapitation) und Ausblutenlassen entnommen und verarbeitet werden. Bei der Untersuchung von Pferd, Rind und Schaf mußte Schlachthofmaterial verwendet werden[1]. Diese Leberproben wurden unmittelbar nach dem Töten und Ausweiden entnommen und in ein kleines, verschließbares Glasgefäß gegeben, welches sofort in Eis gekühlt wurde. Der Zeitbedarf bis zum Moment der Schnittherstellung betrug 15—20 min. In Bestätigung der von KREBS [13] ausgeführten Kontrollversuche konnte bei einem derartigen Vorgehen mit Lebergewebe von Meerschweinchen keine signifikante Herabsetzung des O_2-Verbrauches gegenüber der Norm wahrgenommen werden.

2. Darstellung der Mitochondrienfraktion. Zur Isolierung der Leberzellmitochondrien wurde das Prinzip von LEUTHARDT u. MÜLLER [14], welches von AEBI u. ABELIN [3] zu einem quantitativen Verfahren ausgebaut worden ist, angewandt. Dieses Vorgehen, welches zur näherungsweisen Erfassung der Größe der Mitochondrienfraktion brauchbar ist, besteht aus zwei fraktionierten Zentrifugierungen, wobei die beiden Stufen mehrmals wiederholt werden (vgl. Abb. 1 in [3]). Die Zentrifugierungen wurden 2 respektiv 20 min bei 1500 g und 0° C mit einer „International" Kühlzentrifuge, Modell PR 1, ausgeführt. Als Ausgangsmaterial diente ein 25%iges Leberhomogenat in 1,22% KCl. Zum Auswaschen wurde 5,75% Mannit-Lösung verwendet. In aliquoten Teilen von Totalhomogenat und isolierter Mitochondrien-Fraktion wurde der Gesamt-N nach der Mikroveraschungsmethode von PARNAS-KJELDAHL bestimmt und dieser als Maß zur Berechnung des prozentualen Anteiles der Mitochondrien-Fraktion am Gesamtgewebe verwendet. In der

[1] Herrn Dr. med. vet. E. BLASER sei für seine verständnisvolle Mitarbeit hiermit bestens gedankt.

Regel wurden Leberproben zweier verschiedener Tierarten im gleichen Arbeitsgang (simultane Zentrifugierung) verarbeitet. Es sei darauf hingewiesen, daß diese Daten aus methodischen Gründen keinen Anspruch auf absolute Richtigkeit erheben dürfen, da die Ausbeute an Mitochondrien keine vollständige ist. Nach HOGEBOOM, SCHNEIDER u. PALLADE [9] kann angenommen werden, daß die wahren Werte etwa 20—25% höher liegen. Demgegenüber ist diese relativ einfache Methode geeignet, brauchbare Vergleichsdaten zu liefern.

3. Enzymatische Methoden. a) Die Bestimmung der Succinodehydrogenase-Aktivität von Totalhomogenat und Mitochondrien-Suspension erfolgte nach der manometrischen Methode von SCHNEIDER u. POTTER [16], wobei der in der einstündigen Versuchsperiode gemessene O_2-Verbrauch der Berechnung zugrunde gelegt wurde.

b) Zur Messung der Pyruvatoxydation im verdünnten Totalhomogenat wurde die früher für Mitochondrien-Suspensionen benützte Technik [3] angewandt. In den Hauptraum der WARBURG-Gefäße wurden eingefüllt: a) 0,5 ml isotonischer Na-phosphat-Pufferlösung (p_H 7,3); b) 0,5 ml 0,067 m Na-pyruvatlösung („Roche"), Endkonzentration im Ansatz 0,011 m; c) 0,5 ml eines Gemisches von isotonischer KCl- und $MgCl_2$-Lösung (im Verhältnis von 4:1 Volumteilen); d) 0,3 ml 0,01 m ATP-Tetranatriumsalz (Präparat „Fluka") gelöst in isotonischer Mannitlösung; e) 0,5 bzw. 1,0 ml 5%iges mit isotonischer Mannitlösung verdünntes Homogenat und zuletzt 0,2 ml 20%ige KOH in den zentralen Einsatz zur Absorption der gebildeten Kohlensäure. Versuchstemperatur 37,5° C. Zur Berechnung des Q_{O_2} (N) würde der während der einstündigen Versuchsdauer gemessene O_2-Verbrauch der Ansätze auf einen Total-N-Gehalt von 1 mg bezogen.

c) Die Bestimmung des Cytochrom-C-Gehaltes der Leber erfolgte nach der Methode von PRADER u. GONELLA [15]. Als Ausgangsmaterial dienten — je nach Gehalt — Leberproben von 1—20 g Frischgewicht. Die spektralphotometrische Bestimmung des vorher mit $Na_2S_2O_4$ reduzierten Cytochrom-C im gereinigten Gewebsextrakt wurde mit dem Beckman-Gerät vorgenommen, wobei die bei 550 respektiv 560 mμ ermittelten Extinktionswerte der Berechnung zugrunde gelegt wurden.

d) Die Messung der Cytochromoxydase-Aktivität wurde nach der manometrischen Methode von SCHNEIDER u. POTTER [16] ausgeführt. Das Leberhomogenat wurde jeweils auf 3 verschiedenen Stufen getestet (0,1, 0,15 u. 0,2 ml pro Ansatz je 3 ml), wobei die Konzentration des verwendeten Homogenats der jeweiligen Aktivität angepaßt werden mußte. Während sich die in der Originalvorschrift angegebene Homogenatkonzentration von 1% bei Lebergewebe von Maus und Ratte am geeignetsten erwies, mußte diese bei der Untersuchung von Pferde- und Rinderleber auf das 10—20fache erhöht werden. Zur Berechnung des Q_{O_2}-(N)-Wertes wurde der während der einstündigen Versuchsdauer beobachtete O_2-Verbrauch nach Abzug des Blindwertes auf einen Total-N-Gehalt von 1 mg bezogen.

Ergebnisse

1. Der O_2-Verbrauch von Leberschnitten. Wie aus Tab. 1 zu entnehmen ist, variiert die Gewebsatmung überlebender Schnitte je nach Species in beträchtlichem Ausmaß. Stellt man die Extremwerte der Versuchsreihe einander gegenüber, so resultiert zwischen den für Maus und Pferd ermittelten Werten ein Verhältnis von 8 : 1. Da die hier angeführten Q_{O_2}-Werte auf das End-Trockengewicht der Organschnitte bezogen worden sind, ist in diesem Zusammenhang die Tatsache von Interesse, daß eine

Korrelation zwischen der Größe der Gewebsatmung und dem Wassergehalt respektiv dem Trockengewichtsanteil des Lebergewebes nicht besteht. Letztere Größen zeigen nur eine geringgradige Variation. Rattenleber weist mit 31,0% den höchsten Trockengewichtsanteil auf; die für Mäuse- und Pferdeleber gefundenen Werte sind praktisch identisch (28,9 respektiv 29,1%).

Tabelle 1. *Gewebsatmung, Wassergehalt und Größe der Leber verschiedener Tierarten.* *M* Mittelwert aus je 5—8 Doppelbestimmungen; *m* Standardabweichung;

$$m = \sqrt{\frac{\varepsilon d^2}{(n-1)}}$$

Art	O_2-Verbrauch von Leberschnitten $Q_{O_2} = \frac{\text{mm}^3\ O_2/\text{Std}}{\text{mg Trockengew.}}$ $M \quad m$	Trockengewichtsanteil in Prozent = (100 — x % H_2O-Gehalt)	Relatives Lebergewicht g Leber pro 100 g Körpergewicht	Körpergewicht in kg
Maus	16,1 ± 0,9	28,9	4,8	0,028
Goldhamster	11,2 ± 0,2	28,1	4,2	0,10
Ratte	8,4 ± 0,7	31,0	3,6	0,18
Meerschweinchen	6,8 ± 0,5	28,8	3,5	0,50
Kaninchen	6,3 ± 0,9	28,0	3,0	1,0
Schaf	2,6 ± 0,2	27,5	2,5*	40
Rind	2,5 ± 0,3	28,2	1,1*	300
Pferd	2,1 ± 0,1	29,1	1,2*	750

* Größenangaben aus der Literatur [6] übernommen.

Um den prozentualen Anteil, den der Leber am Gesamtenergieumsatz zukommt, besser beurteilen zu können, sind in Tab. 1 auch die relativen Lebergewichte angeführt worden. Daraus ergibt sich bei vergleichender Betrachtung, daß bei abnehmendem Körpergewicht nicht nur eine Intensivierung des Gaswechsels des Lebergewebes pro Gewichtseinheit zu verzeichnen ist, sondern auch eine bemerkenswerte Zunahme der relativen Größe dieses Organs. Beträgt das Lebergewicht bei Rind und Pferd nur wenig mehr als ein Prozent des Körpergewichtes, so ist dieses Verhältnis bei Ratte und Maus etwa 3—4mal größer.

2. Pyruvatoxydation und Succinodehydrogenase-Aktivität. Die Abhängigkeit dieser beiden Enzymkonzentrationen von Körpergröße und Species ist unterschiedlich. Während die im Homogenat bestimmte Pyruvatoxydation etwa die gleiche Abhängigkeit zeigt, wie sie beim Schnitt beobachtet werden kann, sind die bei der Succinodehydrogenase-Aktivität auftretenden Differenzen bedeutend geringer. Werden die Werte derjenigen beiden Vertreter, die extremes Verhalten zeigen, einander gegenübergestellt, so ergibt sich zwischen Maus und Pferd ein Verhältnis von 8 : 1 bezüglich Pyruvatoxydation (198 respektiv 24 mm^3 O_2/Std/mg N), wogegen bei der Succinodehydrogenase-Aktivität ein

solches von nur 3 : 1 besteht (1047 respektiv 370 mm³ O_2/Std/mg N). Die Succinodehydrogenase, wie auch die übrigen am Ablauf des Citronensäurecyclus beteiligten Enzyme haben ihren Sitz wohl zum überwiegenden Teil in der Mitochondrien-Fraktion der Zelle. Um über die intracelluläre Verteilung der hier zunächst im Gesamthomogenat bestimmten Succinodehydrogenase weiteren Aufschluß zu erhalten, wurden einerseits Anhaltspunkte über die Größe der Mitochondrien-Fraktion zu gewinnen versucht, andererseits wurde die Bestimmung der Succinodehydrogenase-Aktivität auch bei Suspensionen isolierter Mitochondrien ausgeführt, worüber unten berichtet werden soll (vgl. Tab. 2).

Tabelle 2.

Größe der Mitochondrien-Fraktion, Succinodehydrogenase-Aktivität und Pyruvatoxydation.

M Mittel aus je 6, 8 oder 12 Doppelbestimmungen; *m* Standardabweichung

Art	Größe der Mitochondrien-Fraktion in Prozent des Total-N-Gehaltes des Gesamthomogenats	Succinodehydrogenase-Aktivität der isolierten Mitochondrien $Q_{O_2}(N) = \frac{mm^3\ O_2}{Std \cdot mg\ N}$		Succinodehydrogenase-Aktivität im Gesamthomogenat $Q_{O_2}(N) = \frac{mm^3\ O_2}{Std \cdot mg\ N}$		Pyruvatoxydation (Gesamthomogenat) $Q_{O_2}(N) = \frac{mm^3\ O_2}{Std \cdot mg\ N}$	
		M	*m*	*M*	*m*	*M*	*m*
Maus	22,2 ± 0,7	1871 ±	43	1047 ±	67	198 ±	8
Goldhamster . .	19,6 ± 1,2	1425 ±	51	563 ±	12	122 ±	9
Ratte	22,8 ± 1,8	1685 ±	53	692 ±	102	120 ±	11
Meerschweinchen	14,5 ± 1,2	1419 ±	135	490 ±	88	47 ±	1,0
Kaninchen . . .	11,0 ± 1,2	1335 ±	124	422 ±	53	52 ±	0,9
Schaf	10,0 ± 0,8	1290 ±	42	407 ±	21	47 ±	4,3
Rind	9,6 ± 0,4	1295 ±	40	430 ±	35	53 ±	6,1
Pferd	8,3 ± 0,6	1370 ±	45	370 ±	30	24 ±	1,0

3. Verhalten der Mitochondrien-Fraktion. Der Anteil der Mitochondrien-Fraktion am Gesamtgewebe, welcher in früheren Versuchen [3, 9] bei der Ratte zu etwa 20—24% des Total-N-Gehaltes bestimmt worden ist, zeigt in vergleichend anatomischer Sicht ein besonderes Verhalten. Bei der Verarbeitung von Leberproben größerer Säuger ist die Mitochondrien-Ausbeute wesentlich kleiner. Sie beträgt im Vergleich zu derjenigen der Ratte (22,8%) rund drei Viertel beim Meerschweinchen (14,5%), etwa die Hälfte beim Kaninchen (11,0%), während Pferdeleber nur noch ein Drittel des Mitochondrien-Gehaltes der Rattenleber (8,3%) aufweist (Tab. 2). Demgegenüber ist bei den kleinen Nagern, wie Ratte, Goldhamster und Maus eine derartige Abhängigkeit von der Körpergröße nicht zu beobachten. Obwohl Mäuseleber als Schnitt eine doppelt so intensive Gewebsatmung zeigt wie Rattenleber (Q_{O_2} = 16,1 respektiv 8,4), haben beide Organe denselben Mitochondrien-Gehalt, sofern der Gesamtstickstoff als Richtlinie genommen wird (22,2 respektiv 22,8%).

Wird nun die Succinodehydrogenase-Aktivität der auf diese Weise isolierten Lebermitochondrien bestimmt, so ist besonders bei den größeren Tierarten eine auffallend geringe Streuung der Q_{O_2}-Werte zu verzeichnen, die meist in den Bereich von 1290—1420 mm³ O_2/Std/mg N zu liegen kommen. Lediglich die aus Rattenleber, sowie vor allem die aus Mäuseleber isolierten Mitochondrien weisen Aktivitäten auf, die wesentlich höher liegen (Ratte 1685; Maus 1871 mm³/Std/mg N). Daraus folgt, daß die Succinodehydrogenase-Aktivität der isolierten Mitochondrien in wesentlich geringem Ausmaß variiert als diejenige des Totalhomogenats. Wird angenommen, daß die Succinodehydrogenase zum überwiegenden Teil in den Mitochondrien lokalisiert ist, darf dieser Befund als weiterer Hinweis dafür angesehen werden, daß die Mitochondrien-Fraktion je nach Species von recht unterschiedlicher Größe ist.

4. Cytochrom-C und Cytochromoxydase. Die bei diesen Atmungsenzymen zu beobachtende Abhängigkeit der Enzymkonzentration von der Artzugehörigkeit ist in beiden Fällen beträchtlich. Stellt man die bei Maus respektive Pferd gefundenen Extremwerte einander gegenüber, so resultieren Verhältniszahlen von gleichen Größenordnung, wie sie bei der Gewebsatmung und Pyruvatoxydation ermittelt worden sind. Der Cytochrom-C-Gehalt der Mäuseleber (8,2 mg-%) beträgt rund das achtfache desjenigen der Pferdeleber (1,0 mg-%); die Cytochromoxydase-Aktivität variiert in einem Verhältnis von 1 : 7 (vgl. Tab. 3). Die Tatsache, daß diese beiden Enzyme bei der Elektronenübertragung wie ein Räderwerk ineinandergreifen, läßt vermuten, daß die Konzentration an diesen Enzymen gegenseitig aufeinander abgestimmt ist. Diese Annahme findet ihre Bestätigung darin, daß der Quotient Cytochrom-C : Cytochromoxydase trotz großen Schwankungen der Absolutwerte eine bemerkenswerte Konstanz aufweist.

Tabelle 3. *Cytochrom-C-Gehalt und Cytochromoxydase-Aktivität der Leber.*
M Mittelwerte aus je 5—7 Doppelbestimmungen; *m* Standardabweichung

Art	Cytochrom-C-Gehalt in mg-%		Cytochromoxydase-Aktivität $Q_{O_2} = \frac{\text{mm}^3\ O_2}{\text{Std} \cdot \text{mg N}}$		Quotient $Q = \frac{\text{Cytochrom-C}}{\text{Cytochromoxydase}} \times 1000$
	M	*m*	*M*	*m*	
Maus	8,2	± 0,8	2771	± 71	3,0
Goldhamster	5,8	± 0,3	1821	± 49	3,2
Ratte	7,2	± 0,3	2519	± 73	2,9
Meerschweinchen	4,5	± 0,9	1360	± 57	3,3
Kaninchen	2,1	± 0,2	767	± 43	2,7
Schaf	1,3	± 0,2	455	± 41	2,9
Rind	1,0	± 0,5	382	± 23	2,6
Pferd	1,0	± 0,5	410	± 108	2,4

Diskussion

Aus den vorliegenden Ergebnissen geht hervor, daß nicht nur die bereits mehrfach untersuchte Gewebsatmung der Leber, sondern auch eine Reihe weiterer Eigenschaften dieses Organs in beträchtlichem Ausmaß von Körpergröße und Artzugehörigkeit abhängen. Daß diese Abhängigkeit annähernd dieselbe ist, wie sie beim Grundumsatz als Funktion des Körpergewichts besteht, ist zuerst von KLEIBER [11] beobachtet worden. Frühere Untersucher [8, 18] haben dieses Verhalten offenbar übersehen. Er hat nämlich gefunden, daß zwischen dem Q_{O_2}-Wert überlebender Schnitte von Kaninchen-, Ratten- und Schafleber und der vierten Wurzel des Körpergewichts umgekehrte Proportionalität besteht. Aus Abb. 1 kann entnommen werden, daß die auf einem wesentlich umfangreicheren Beobachtungsgut beruhenden Daten diesen Befund bestätigen. Wird die Gewebsatmung der Leber als Funktion des reziproken Wertes der vierten Wurzel aus dem Körpergewicht aufgetragen, so resultiert annähernd eine Gerade. Diese fällt nun formal mit der zwischen Grundumsatz (Wärmeproduktion) und Körpergewicht bestehenden Beziehung zusammen. Nach KREBS [13] ist das Verhalten der Leber indessen als Sonderfall anzusehen, da die Gewebsatmung anderer Organe (z. B. Niere, Lunge, Milz, Gehirn) in wesentlich geringerem Ausmaß von der Körpergröße abhängig ist. Dasselbe gilt nach VON BERTALANFFY u. ESTWICK [4] auch für den in vitro gemessenen O_2-Verbrauch des quergestreiften Muskels.

Der Anteil, welcher dem oxydativen Leberstoffwechsel am Gesamtenergieumsatz des Körpers zukommt, hängt nun einerseits von der Intensität der Gewebsatmung der Leber, andererseits auch von der relativen Größe dieses Organs ab. Eine direkte Gegenüberstellung von in vitro gemessenem O_2-Verbrauch des Lebergewebes und dem Gaswechsel des intakten Versuchstieres ist indessen nur dann gerechtfertigt, sofern annommen werden darf, daß die Gewebsatmung der Leber in vivo und in vitro von gleicher Größenordnung sind. Dafür spricht z. B. der von FIELD, BELDING u. MARTIN [7] bei der Ratte erhobene Befund, wonach die Summe der in vitro bei 37° C gemessenen Atmungsbeträge der Größe des Grundumsatzes annähernd gleichkommt (etwa 85%). Es ist wahrscheinlich, daß die hier unter Imitierung des normalen Substratnachschubes ermittelten Werte, den tatsächlichen Verhältnissen noch näher kommen. Da nun das Lebergewicht bei den kleinen Tierarten einen wesentlich größeren Prozentsatz des Körpergewichtes ausmacht, ist der relative Anteil der Leber am Gesamtenergieumsatz unter der oben gemachten Annahme um so größer, je kleiner die Tierart. Werden einer derartigen Berechnung die in Tab. 1 angeführten relativen Lebergewichte (Extremwerte Maus 4,8%; Pferd 1,1%) zugrunde gelegt, dann ergibt sich, daß die Leber bezüglich O_2-Verbrauch

je nach Tierart zu ungefähr 7—15% am Gesamtenergieumsatz beteiligt ist (Abb. 2).

Die Korrelation, die zwischen der Intensität des oxydativen Leberstoffwechsels und dem Körpergewicht besteht, ist wie bereits KREBS [13]

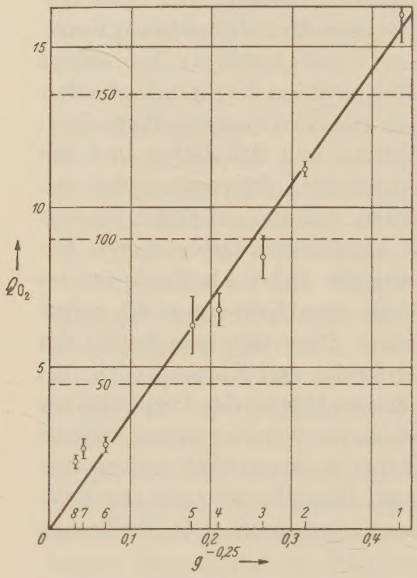

Abb. 1

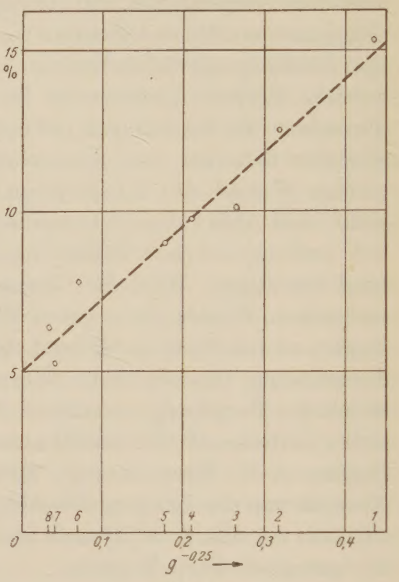

Abb. 2

Abb. 1. Gewebsatmung von Leberschnitten und Grundumsatz in Abhängigkeit von Tierart und Körpergewicht. Abszisse: Mittleres Körpergewicht in Gramm, aufgetragen als

$$x = g^{-0,25} \left(= \frac{1}{\sqrt[4]{g}} = \frac{kg^{-0,25}}{5,61} \right)$$

Ordinate: a) ⊙ O_2-Verbrauch (in vitro) in mm^3 O_2/Std/mg Endtrockengewicht (Q_{O_2}); Mittelwert und Standard-Deviation. b) ——— Gerade, welche der von KLEIBER [12] gegebenen Beziehung zwischen Grundumsatz und Körpergewicht entspricht (y = 70 Cal/$kg^{0,75}$), nachdem der errechnete Grundumsatzwert auf die Gewichtseinheit bezogen worden ist (y/kg = 70 Cal/$kg^{-0,25}$). Die zu dieser Geraden gehörende Ordinatenskala (Cal/kg/24 Std) ist mit ---- bezeichnet

Abb. 2. Verhältnis der auf das Totalgewicht der Leber extrapolierten Gewebsatmung zum Grundumsatz. Abszisse: Mittleres Körpergewicht in Gramm, aufgetragen als $g^{-0,25}$ Ordinate: (in vitro) gemessener O_2-Verbrauch der Leber in Prozent des in vivo bestimmten Gaswechsels. — Es bedeuten in allen Abbildungen: 1 Maus, 2 Goldhamster, 3 Ratte, 4 Meerschweinchen, 5 Kaninchen, 6 Schaf, 7 Rind, 8 Pferd

festgestellt hat eine recht unvollständige. Dabei sind es bei seiner Vergleichsreihe insbesondere die beiden Vertreter der Klasse der Raubtiere (Hund, Katze), welche sich durch abnorm hohe Werte auszeichnen. Der Einfluß der Specieszugehörigkeit, dem diese Unstimmigkeiten wohl zuzuschreiben sind, macht sich indessen auch innerhalb der gleichen Klasse bemerkbar; so kommt er hier bei einer Gegenüberstellung der eher aktiven, omnivoren Nager (Ratte, Maus) und den herbivoren Vertretern dieser Klasse (Meerschweinchen, Goldhamster) zur Geltung. Die

hier vorgenommene Gegenüberstellung deckt sich indessen nicht mit der klassischen Systematik der Nager, indem Maus, Ratte und Goldhamster zu den Muriden, das Meerschweinchen dagegen zu den Caviiden zu zählen sind. Während die Aktivitätsunterschiede innerhalb der gleichen Gruppen etwa der oben erwähnten Beziehung (umgekehrte Proportionalität zur vierten Wurzel des Körpergewichts) entsprechen,

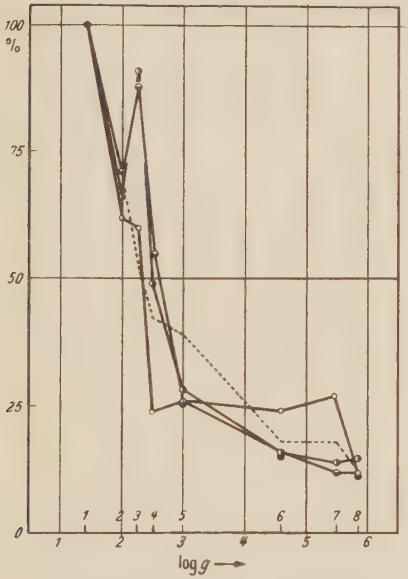

Abb. 3

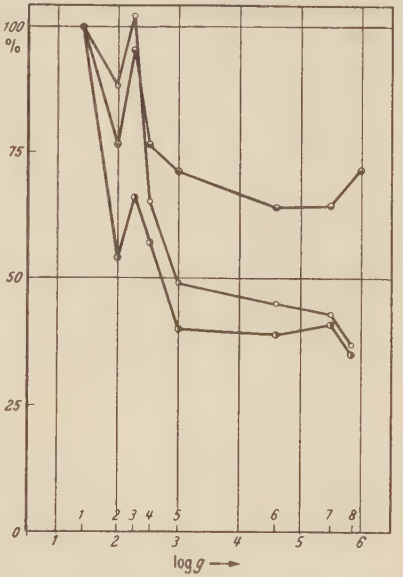

Abb. 4

Abb. 3 u. 4. Relative enzymatische Aktivität der Leber verschiedener Tierarten. Abszisse: Logarithmus des Körpergewichts (in Gramm). Ordinate: Prozentuale Aktivität (Wert für Maus = 100%). a) Abb. 3. ····· Q_{O_2} der Leberschnitte; ○ Pyruvatoxydation; ◑ Cytochromoxydase: ◒ Cytochrom-C. b) Abb. 4. ○ Anteil der Mitochondrien-Fraktion in Prozent des Total-N-Gehaltes. ◑ Succinodehydrogenase-Aktivität im Gesamthomogenat. ◒ Succinodehydrogenase-Aktivität in den Mitochondrien

zeigen beide Vertreter der ersterwähnten Gruppe in verschiedener Hinsicht wesentlich höhere Werte (Abb. 3 und 4). Inwieweit diese Differenzen wirklich artspezifisch sind oder ob sie infolge des unterschiedlichen Körperbaues lediglich Ausdruck der veränderten Relation Oberfläche: Volumen sind, kann hier nicht entschieden werden.

Weiter geht aus den in Abb. 3 und 4 angestellten Vergleichen hervor, daß neben der Gewebsatmung auch Pyruvatoxydation, Cytochrom-C-Gehalt und Cytochromoxydase-Aktivität in etwa gleichem Ausmaß von der Körpergröße abhängen. Es fällt zudem auf, daß die innerhalb der Klasse Nager bestehenden Speciesunterschiede bei den einzelnen Enzymen viel stärker zum Ausdruck kommen als dies bei der Gewebsatmung der Fall ist. So ist z. B. der Gehalt der Rattenleber an den beiden

eisenhaltigen Atmungsenzymen bedeutend größer als es der allgemeine Gang der Korrelation zum Körpergewicht erwarten ließe; ferner ist die Pyruvatoxydation der Meerschweinchenleber verglichen mit der Atmung der Schnitte auffallend gering. Einen kleineren Abhängigkeitsgrad von der Körpergröße weist von den untersuchten Enzymen einzig die Succinodehydrogenase-Aktivität des Gesamthomogenats auf. Bei der Beurteilung dieser Abweichung ist indessen zu berücksichtigen, daß dieses Enzym bei intakter Zellstruktur kaum als umsatzbegrenzender Faktor in Erscheinung treten dürfte.

Ein besonderes Verhalten zeigt die Mitochondrien-Fraktion respektive die in ihr enthaltenen Enzyme. Am Beispiel der auch in den isolierten Mitochondrien untersuchten Succinodehydrogenase ergibt sich, daß es hier 2 verschiedene Vorgänge sind, welche mit abnehmenden Körpergewicht zu einer Vermehrung der enzymatischen Aktivität führen. Einerseits kommt es — vor allem im Bereich der größeren Tierarten — zu einer Vergrößerung der Mitochondrien-Fraktion als solcher, offenbar bis zum Erreichen eines oberen Grenzwertes, welcher bei dieser Methodik etwa bei 20—25% liegt. Andererseits ist sodann eine Erhöhung der Enzymkonzentration in den einzelnen Mitochondrien festzustellen. Daß sich diese beiden Faktoren, welche die im Gesamtgewebe resultierende Aktivität bestimmen, auf die Vergleichsreihe nicht gleichmäßig verteilen, wird durch die in Abb. 4 gewählte Darstellungsweise verdeutlicht. Hierzu muß bemerkt werden, daß bei der Messung der Succinodehydrogenase in isolierten Zellfraktionen offenbar infolge Auswaschung von Cofaktoren zu niedrige Werte resultieren (Schneider u. Hogeboom [17]). Es ist daher anzunehmen, daß besonders die Resultate für die stärker mit Enzym angereicherten Mitochondrien von Maus und Ratte eher zu niedrig ausgefallen sind. Sofern das Verhalten der Succinodehydrogenase verallgemeinert werden darf, ergibt sich somit bei vergleichend anatomischer Betrachtung, daß der Anteil der in der Leber ablaufenden Oxydationsprozesse am Gesamtenergieumsatz durch 3 Faktoren bestimmt wird: nämlich durch 1. das relative Lebergewicht, 2. die Größe der Mitochondrien-Fraktion, und 3. die Enzymkonzentration in den einzelnen Mitochondrien.

Für das Zustandekommen der hier am Beispiel der Leber verfolgten Abhängigkeit der Gewebsatmung von der Körpergröße sind eine ganze Reihe von Gründen anzuführen; diese sind von Kleiber [12] ausführlich diskutiert worden. Als wesentlichste seien die Abhängigkeit des Verhältnisses Oberfläche : Volumen sowie die Länge des mittleren Nachschubweges von der Körpergröße erwähnt. Ein weiterer Faktor ist die bei kleinen Tieren zu beobachtende generelle relative Größenzunahme der Organe mit intensivem Stoffwechsel (Gehirn, Niere, Leber), worauf Kestner [10] hingewiesen hat. Von eher untergeordneter Bedeutung ist

schließlich der mit der Organgröße zunehmende Prozentsatz an Strukturen (wie Bindegewebe, Gefäße usw.), welche — der Stützung und dem Transport dienend — nur einen recht geringen Stoffwechsel aufweisen. Es ist indessen anzunehmen, daß die Bedeutung der einzelnen Faktoren von Organ zu Organ eine unterschiedliche ist. Bei der Leber, dem Zentralorgan des Intermediärstoffwechsels, dürfte die Intensität der Oxydationsvorgänge eher durch den großen lokalen Energiebedarf als durch den Wärmebedarf des Gesamtorganismus gegeben sein. Eine strenge Trennung dieser beiden Größen ist indessen bei der Leber kaum möglich. Sofern Sauerstoffnachschub und Substratangebot optimal sind, ist der Enzymgehalt der Leberzellen als umsatzbegrenzender Faktor anzusehen. Es ist somit die ungleiche Enzymausrüstung, welche für die beträchtlichen Unterschiede, die beim oxydativen Leberstoffwechsel verschiedener Tierarten bestehen, in erster Linie verantwortlich zu machen ist. Die Konzentration der einzelnen Enzyme ist indessen zur Gewährleistung eines harmonischen Zusammenspiels aufeinander abgestimmt. Die hierbei auftretenden Schwankungen des gegenseitigen Mengenverhältnisses werden von der Körpergröße kaum beeinflußt und sind wohl als Ausdruck der Artspezifität aufzufassen.

Zusammenfassung

1. Zur Bestimmung der Abhängigkeit des Leberstoffwechsels von Körpergröße und Artzugehörigkeit wurde eine Reihe von Eigenschaften der Leber bei acht verschiedenen Tierarten (Maus, Goldhamster, Ratte, Meerschweinchen, Kaninchen, Schaf, Rind, Pferd) vergleichend untersucht.

2. Zwischen dem O_2-Verbrauch von Schnitten (Q_{O_2}) und dem Grundumsatz (Cal/kg) besteht näherungsweise direkte Proportionalität. Mit zunehmender Körpergröße nehmen relatives Lebergewicht und Anteil der Leber am Gesamtenergieumsatz ab. Auch Cytochrom-C-Gehalt, Cytochromoxydase und Pyruvatoxydation variieren im Verhältnis (Pferd zu Maus) von etwa 1 : 8. Der Quotient zwischen Cytochrom-C und Cytochromoxydase-Konzentration bleibt praktisch konstant.

3. Die Größe der Mitochondrien-Fraktion zeigt eine derartige Abhängigkeit vorwiegend bei größeren Tierarten, während im Bereich der kleinen Laboratoriumstiere ein oberer Grenzwert erreicht zu sein scheint. Die Enzymkonzentration (Succinodehydrogenase) in den isolierten Mitochondrien schwankt nur wenig.

4. Systematische Abweichungen, die besonders im Bereich der kleinen Nager zu beobachten sind, weisen auf den Einfluß der Species-Zugehörigkeit hin. So zeigen die eher aktiven Nagertypen Maus und Ratte selbst unter Berücksichtigung des geringen Körpergewichtes erheblich höhere Enzymkonzentrationen als ihre Verwandten Goldhamster und Meerschweinchen.

Literatur

[1] Aebi, H.: Helvet. physiol. Acta **8**, 525 (1950). — [2] Aebi, H.: Helvet. physiol. Acta **11**, 96 (1953). — [3] Aebi, H., u. I. Abelin: Biochem. Z. **324**, 364 (1953). — [4] Bertalanffy, L. v., and R. R. Estwick: Amer. J. Physiol. **173**, 58 (1953). — [5] Deutsch, W.: J. of Physiol. **87**, 56P (1936). — [6] Ellenberger, W., u. H. Baum: Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere, 18. Aufl. Berlin: Springer 1943. — [7] Field, J., H. S. Belding and A. W. Martin: J. Cellul. a. Comp. Physiol. **143**, 14 (1939). — [8] Grafe, E., H. Reinwein u. V. Singer: Biochem. Z. **165**, 102 (1935). — [9] Hogeboom, G. H., W. C. Schneider and G. E. Pallade: J. of Biol. Chem. **172**, 619 (1948). — [10] Kestner, O.: Pflügers Arch. **234**, 290 (1934). — [11] Kleiber, M.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **48**, 419 (1941). — [12] Kleiber, M.: Physiologic. Rev. **27**, 511 (1947). — [13] Krebs, H. A.: Biochim. et Biophysica Acta **4**, 249 (1950). — [14] Leuthardt, F., u. A. F. Müller: Experientia (Basel) **4**, 478 (1948). — [15] Prader, A., u. A. Gonella: Experientia (Basel) **3**, 462 (1947). — [16] Schneider, W. C., and V. R. Potter: J. of Biol. Chem. **149**, 217 (1943). — [17] Schneider, W. C., and G. H. Hogeboom: J. Nat. Cancer Inst. (Bethesda) **10**, 969 (1950). — [18] Terroine, F., et J. Roche: C. r. Acad. Sci. (Paris) **180**, 225 (1925).